



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

**Actividad oxido-reductora en los hematíes conservados  
en las condiciones estándar de un Centro de  
Hemoterapia y Banco de Sangre. Lima, 2018**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**AUTOR**

Julio César CALDAS GUERRA

**ASESOR**

Dra. Silvia SUÁREZ CUNZA

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Caldas J. Actividad oxido-reductora en los hematíes conservados en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre. Lima, 2018 [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2020.

---

## Hoja de Metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0002-7354-5963
DNI del autor	72433410
Código ORCID del asesor	0000-0001-7848-0102
DNI del asesor	08043525
Grupo de investigación	“—”
Agencia financiadora	Perú Vicerrectorado de Investigación y Posgrado – UNMSM Programa de promoción de tesis de pregrado 2019 A19010084
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión” – Callao. - 12.062696, -77.123538  Instituto Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” – Lima. - 12.057837, -77.022943
Rango de años en que se realizó la investigación	2018 – 2019
Disciplinas OCDE	Tecnología médica de laboratorio <a href="http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.06.02">http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.06.02</a>  Bioquímica, Biología molecular <a href="http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03">http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú, Decana de América  
**Facultad de Medicina**  
**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

**"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Lic. Ricardo Mafalky Rodríguez Torres  
Miembros: Mg. Martín Gaspar Magallanes Sebastián  
Lic. Yvan Vladimir Salazar Criado  
Asesora : Dra. Silvia Suárez Cunza

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 20 de noviembre del 2020, siendo las 11:30 horas, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"Actividad oxido-reductora en los hematíes conservados en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre. Lima, 2018."**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Señor:

***JULIO CÉSAR CALDAS GUERRA***

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....17 .....  
(En números)

.....DIECISIETE.....  
(En letras)

Que corresponde a la mención de: .....MUY BUENO....

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....  
Presidente  
Lic. Ricardo Mafalky Rodríguez Torres  
D.N.I: 10426839

.....  
Miembro  
Mg. Martín Gaspar Magallanes Sebastián  
D.N.I: 21811014

.....  
Miembro  
Lic. Yvan Vladimir Salazar Criado  
D.N.I: 06103339

.....  
Asesora de Tesis  
Dra. Silvia Suárez Cunza  
D.N.I: 08043525

**Datos de plataforma virtual institucional del acto de sustentación: Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:** <https://medical-int.zoom.us/j/99611411195>

ID:

Grabación archivada en:

## DEDICATORIA.

A mi mamá y mi papá, las personas más importantes en mi vida, quienes siempre me aconsejan, apoyan y guían mi camino en los momentos más difíciles. A mis hermanos, por su comprensión, paciencia y apoyo. A mis abuelos, que siempre velan por mí, pues fungen como padres en todo momento, y me brindan constantemente su respaldo.

## AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, a mi familia, sin ellos nada de esto hubiese sido posible. A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, a través de la Facultad de Medicina “San Fernando” y la Escuela Profesional de Tecnología Médica, por la formación profesional académico-científica y humana que recibí. A mi asesora, doctora Silvia Suárez Cunza, por su ejemplo, respaldo y confianza incondicional. Al Instituto Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” y su director, doctor Miguel Hernán Sandoval Vegas, por las facilidades brindadas para el desarrollo, ejecución y publicación de este trabajo de investigación. A los profesionales que laboran en el banco de sangre del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión”, por permitirme culminar mi formación profesional y el acceso al material de análisis para este trabajo.

## ÍNDICE.

Dedicatoria.....	III
Agradecimientos. ....	IV
Índice. ....	V
Lista de tablas. ....	VIII
Lista de gráficos.....	IX
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción de los antecedentes. ....	2
1.2 Importancia de la investigación. ....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general. ....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 Bases teóricas.....	5
1.4.1 Base teórica. ....	5
A. Marco legal. ....	6
• Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS). ....	7
B. Clasificación de los Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre. ....	7
• Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre tipo I. ....	7
• Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre tipo II.....	8
C. Pruebas de laboratorio.....	8
• Pruebas inmunohematológicas. ....	8
• Pruebas inmunoserológicas. ....	9
D. Fraccionamiento de la sangre. ....	9
E. La unidad de glóbulos rojos (UGR). ....	10
• Actividad metabólica en los hematíes. ....	10
* Metabolismo energético. ....	10
* Sistema oxido-reductor. ....	11



F. Capacidad antioxidante del hematíe. ....	11
• Capacidad antioxidante total. ....	12
* El radical ABTS. ....	12
• Antioxidantes enzimáticos. ....	12
* Superóxido dismutasa (SOD). ....	12
* Catalasa (CAT). ....	13
• Antioxidantes no enzimáticos. ....	14
* Vitamina C (Vit C). ....	14
G. Daño oxidativo en el hematíe. ....	15
• Lipoperoxidación. ....	15
* Malondialdehído. ....	16
H. Lesiones en el hematíe durante el almacenamiento. ....	17
1.4.2 Definición de términos. ....	18
1.4.3 Formulación de la hipótesis. ....	19
CAPÍTULO II: MÉTODOS. ....	20
2.1 Diseño metodológico. ....	21
2.1.1 Tipo de investigación. ....	21
2.1.2 Diseño de la investigación. ....	21
2.1.3 Población. ....	21
2.1.4 Muestra y muestreo. ....	21
2.1.4.1 Criterios de inclusión. ....	21
2.1.4.2 Criterios de exclusión. ....	21
2.1.5 Variables. ....	22
2.1.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos. ....	23
2.1.7 Procedimientos y análisis de datos. ....	23
2.1.8 Consideraciones éticas. ....	26
CAPÍTULO III: RESULTADOS. ....	27
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN. ....	32
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. ....	36
5.1 Conclusiones. ....	37
5.2 Recomendaciones. ....	37

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	38
ANEXOS. ....	43
Anexo N° 1: Instrumento de recolección de datos. ....	44
Anexo N° 2: Informe de juicio de experto.....	46
Anexo N° 3: Resolución Decanal N° 2382-D-FM-2018.....	49
Anexo N° 4: Oficio N° 4377-2018/HN.DAC-C-DG/OADI.....	51
Anexo N° 5: Distribución de muestras obtenidas.....	52
Anexo N° 6: Protocolo inicial para el lisado de los hematíes.....	53
Anexo N° 7: Cálculo para la dilución y volumen de hemolisado empleado para el ensayo de catalasa. ....	54
Anexo N° 8: Curva de calibración empleada para el ensayo bioquímico AAEAC-ABTS.....	55

## LISTA DE TABLAS.

Tabla N° 1. Lesiones frecuentes en hematíes almacenados: cambios bioquímicos y morfológicos. ....	17
Tabla N° 2. Resultados de la actividad enzimática de SOD y CAT en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizados en tres tiempos. .	28
Tabla N° 3. Resultados de la relación de las actividades de las enzimas SOD/CAT en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos. ....	29
Tabla N° 4. Resultados de capacidad antioxidante total mediante el ensayo AAEAC-ABTS en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos. ....	29
Tabla N° 5. Resultados de lipoperoxidación mediante el ensayo de MDA en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos. ....	30
Tabla N° 6. Coeficiente de correlación de Pearson para los ensayos CAT y AAEAC-ABTS de las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos. ....	30

## LISTA DE GRÁFICOS.

Gráfico N° 1. Mecanismo de reacción de la catalasa. ....	14
Gráfico N° 2. Compuestos derivados de la lipoperoxidación.....	16
Gráfico N° 3. Reacción del malondialdehído con el ácido tiobarbitúrico. Se produce un complejo de color con absorbancia a 535 nm. ....	16
Gráfico N° 4. Actividad enzimática de catalasa en los glóbulos rojos durante el almacenamiento de 42 días. ....	31
Gráfico N° 5. Capacidad antioxidante total en los glóbulos rojos durante el almacenamiento de 42 días. ....	31

## RESUMEN.

**INTRODUCCIÓN:** La evaluación del sistema de defensa antioxidante en eritrocitos almacenados tiene importancia en las ciencias de laboratorio por su implicancia directa en la salud de las personas que reciben transfusiones. Se hace necesario el estudio de los cambios progresivos en el estado óxido-reductor de los hematíes almacenados en un banco de sangre. **OBJETIVO:** Evaluar en tres tiempos, los cambios en la actividad oxido-reductora que se producen en los hematíes durante la conservación en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre. **DISEÑO:** Estudio cuantitativo de tipo observacional-analítico y prospectivo. **LUGAR:** Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre tipo II del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión” y laboratorio III-2 “Marino Villavicencio N.” del Instituto Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se analizó 6 unidades de glóbulos rojos (UGR) almacenados en las condiciones de un banco de sangre, de las cuales se evaluó actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), capacidad antioxidante total y concentración de malondialdehído (MDA). **RESULTADOS:** De las enzimas de defensa antioxidante solo se encontró disminución significativa en la actividad enzimática de catalasa, lo que conllevó también a una diferencia significativa en los valores obtenidos para la relación SOD/CAT; el estado oxido reductor total también tuvo cambios significativos, mientras que no se encontró cambios significativos en los valores de concentración de MDA. **CONCLUSIÓN:** El almacenamiento durante 42 días en las condiciones establecidas para las UGR conduce al inicio de cambios en el estado oxido-reductor de los glóbulos rojos.

**Palabras clave:** Antioxidante, oxidación-reducción, servicio de hemoterapia, transfusión sanguínea, eritrocitos, catalasa.

## ABSTRACT.

**INTRODUCTION:** The evaluation of the antioxidant defense system in stored erythrocytes is important in laboratory science due to its direct implication in the health of people who receive transfusions. The study of the progressive changes in the oxide-reductive state of the red cells stored in a blood bank is necessary. **OBJECTIVE:** To evaluate in three stages, the changes in the oxidation-reducing activity that occur in the red blood cells during the conservation in the standard conditions of a Hemotherapy Center and Blood Bank. **DESIGN:** Quantitative study, observational-analytical and prospective type. **PLACE:** Hemotherapy Center and Type II Blood Bank of the National Hospital "Daniel Alcides Carrión" and laboratory III-2 "Marino Villavicencio N." of the "Alberto Guzmán Barrón" Institute of Biochemistry and Nutrition of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **MATERIALS AND METHODS:** 6 units of red blood cells (UGR) stored under the conditions of a blood bank were counted, from which the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), total antioxidant capacity and malondialdehyde concentration were evaluated. (MDA). **RESULTS:** Of the antioxidant defense enzymes, only a significant decrease was found in the enzymatic activity of catalase, which also led to a significant difference in the values obtained for the SOD/CAT ratio; the total reductive-oxide state also had significant changes, while no significant changes were found in the MDA concentration values. **CONCLUSION:** Storage for 42 days under the conditions established for UGR leads to the initiation of changes in the oxido-reductive state of red blood cells.

**Key words:** Antioxidant, oxidation-reduction, hemotherapy service, blood transfusion, erythrocytes, catalase.

# CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES.

Los glóbulos rojos (GR) constituyen el hemocomponente de mayor uso en el banco de sangre <sup>(1)</sup>. Durante su almacenamiento en los bancos de sangre, los GR sufren cambios morfológicos y bioquímicos denominados “lesión por almacenamiento” <sup>(2, 3)</sup>. Los eventos bioquímicos relacionados con estos cambios incluyen daño oxidativo, pérdida de energía, modificación de membranas entre otros <sup>(3)</sup>.

En el Perú, los procedimientos desde la donación hasta el almacenamiento están estandarizados. Así, el Ministerio de Salud (MINSA), a través del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS), realiza la “normalización, coordinación, supervisión y evaluación del correcto funcionamiento de la red de Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre (CHBS)” <sup>(4)</sup>. Estos tienen como funciones “la captación y selección de los donantes; además, promueven y participan activamente en la promoción de la donación voluntaria de sangre” <sup>(5)</sup>.

Una vez obtenida la sangre del donante, esta pasa por varios procesos de análisis previos al fraccionamiento, conservación y/o eventual transfusión, estas pruebas se comprenden de técnicas pretransfusionales de tipo inmunohematológicas e inmunoserológicas <sup>(1, 6)</sup>; sin embargo, no se realizan pruebas de rutina sobre los hemocomponentes en almacenamiento, por lo tanto no se conoce mucho acerca del comportamiento y situación metabólica de estos mientras se encuentran almacenados esperando a ser requeridos por un paciente.

En el 2002, los investigadores Peñuela, Urbina y Palomino <sup>(2)</sup> ejecutaron una exhaustiva revisión bibliográfica al respecto, obteniendo valiosa información de diversas fuentes científicas especializadas en el tema. Entre sus conclusiones, ellos afirman que “durante el almacenamiento estándar ocurren ciertas modificaciones físicas y bioquímicas en los hematíes que pueden ser retardados o acelerados debido a la acción de los diferentes componentes en el medio de almacenamiento; sin embargo estos no son completamente prevenidos” <sup>(2)</sup>. Además agregaron la importancia de reconocer que “las alteraciones que ocurren durante el almacenamiento de los eritrocitos son diferentes a las que ocurren cuando las células envejecen en la circulación” <sup>(2)</sup>. Así mismo, en el 2013, Hess <sup>(7)</sup> refuerza esta propuesta afirmando que



a pesar de las óptimas condiciones de almacenamiento dentro de un CHBS, “los glóbulos rojos se dañan por la acumulación de sus propios productos de desecho, por daño enzimático y oxidativo, y por muerte celular programada metabólicamente, actividades químicas que conducen a hemólisis, reducción de la recuperación in vivo, pérdida de energía y membrana, y desprendimiento de productos tóxicos” <sup>(7)</sup>. El autor concluye, finalmente, que “la calidad de los glóbulos rojos almacenados está muy relacionada con las condiciones de almacenamiento” <sup>(7)</sup>.

En el año 2017, Muñoz <sup>(8)</sup> y Bardyn et al. <sup>(9)</sup>, en España y Suiza respectivamente, experimentaron con esta propuesta con el objetivo de estudiar los cambios que se producen en los hematíes a través de parámetros descritos que reflejaron el metabolismo celular y defensas antioxidantes <sup>(8,9)</sup>. Muñoz realizó una única medición en muestras de hematíes de diferentes grupos etarios, y “observó una disminución en la actividad de la enzima catalasa (CAT) y de los niveles de GSH y GT, así como un aumento de los niveles de GSSG y MDA y del cociente GSSG/GSH” <sup>(8)</sup>. Al mismo tiempo, el equipo de Bardyn que prefirió hacer su estudio mediante el seguimiento programado de sus muestras, observó que durante todo el proceso de almacenamiento se produjeron varios tipos de lesiones a diferentes niveles, tanto químicos como celulares por la formación de especies reactivas del oxígeno (EROs), lo que podría afectar su recuperación in vivo después de la transfusión <sup>(9)</sup>. A pesar de lo descrito, curiosamente también concluyeron que “la gravedad de los cambios difiere entre los donantes” <sup>(9)</sup>. Con esta información se infiere que las Condiciones Estándar de Almacenamiento en los CHBS pueden determinar la formación de EROs, lo cual podría derivar en situaciones desfavorables que podrían poner en riesgo la salud del receptor.

Por tanto, la revisión efectuada demuestra que la literatura internacional ya registra diversos estudios sobre el tema tomando en cuenta indicadores de metabolismo celular y sistema antioxidante. Muy por el contrario, en la literatura nacional, no se ha realizado estudios sobre indicadores de estado oxidativo (defensa antioxidante) en hematíes conservados, lo que se ha encontrado son estudios de los parámetros de estado redox en tejido placentario <sup>(10)</sup> y en fluidos biológicos <sup>(11)</sup>. Es evidente que se requiere realizar estudios nacionales para aportar conocimiento acerca de este tema.

## 1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN.

En el Perú, y en todos los países, la demanda de hemocomponentes es una necesidad cotidiana. Solamente el 2017, según el reporte anual del servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión”, se atendieron un total de 6491 donantes y se realizaron 11697 transfusiones, de las cuales 5487 corresponden a unidades de glóbulos rojos, 4108 de concentrado de plaquetas, 1817 de plasma fresco congelado, y 385 de crioprecipitado.

La labor del profesional Tecnólogo Médico en el laboratorio es reducir al mínimo el riesgo que conlleva una trasfusión, para que así los pacientes no se vean afectados y puedan recobrar rápidamente su buen estado de salud. Los diversos estudios a los donantes y a las unidades de sangre, tanto inmunohematológicas como inmunoserológicas, son pruebas rigurosas y meticulosas, sin embargo se pueden mejorar aún más complementándolas con otro tipo de pruebas para lograr un mejor monitoreo de la calidad de los hemocomponentes. Se conoce las funciones y las consecuencias metabólicas de la pérdida y/o desbalance de moléculas prooxidantes como los EROs, lo que nos falta saber –entre otras cosas– es su comportamiento en las situaciones descritas con anterioridad.

Lo expuesto previamente sustenta este estudio y cobra gran relevancia porque genera nuevos conocimientos que no son manejados de manera rutinaria o que muchas veces no son tenidos en cuenta debido a la poca difusión y/o la escases de los mismos; además brinda propuestas y propone nuevos retos a futuro con el fin de mejorar el manejo y monitoreo de la calidad de los hemocomponentes; así como también lograr una mejor distribución de los mismos, mucho más acorde con las características y necesidades urgentes que presenten los pacientes.

Para las Ciencias de Salud en general –pero sobre todo en un país como el Perú, que históricamente ha presentado tantos retos en cuanto a salud debido a la naturaleza heterogénea de su población–, este tipo de trabajos de investigación siempre es favorable porque ante la poca información disponible, los conocimientos generados enriquecen nuestras fuentes de consulta, ayudando así a los demás profesionales afines a comprender mejor ciertos mecanismos poco estudiados con anterioridad, además de

transformar nuestra visión acerca de temas a los cuales no se le da la debida importancia, sentando a su vez nuevos precedentes para futuras investigaciones.

Finalmente, los mayores beneficiados serán los pacientes, pues como se ha mencionado antes, este trabajo genera nuevos conocimientos acerca del manejo y control de los productos de la sangre en condiciones de almacenamiento en un CHBS, con el fin de poder monitorear la calidad de los hemocomponentes que los pacientes recibirán.

### 1.3 OBJETIVOS.

#### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL.

- ✓ Evaluar los cambios progresivos en la actividad oxido-reductora que se producen en los hematíes durante la conservación en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre.

#### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ✓ Medir la actividad de enzimas antioxidantes en los hematíes durante la conservación en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre.
- ✓ Determinar el estado oxido reductivo de indicadores bioquímicos de defensa antioxidante en los hematíes durante la conservación en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre.

### 1.4 BASES TEÓRICAS.

#### 1.4.1 BASE TEÓRICA.

Los Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre (CHBS), o comúnmente conocidos como bancos de sangre, aparecen oficialmente en los Estados Unidos. El primer CHBS se creó en 1937 en la ciudad de Chicago, Illinois, bajo el nombre de “The Blood Preservation Laboratory”; y en el Perú, el primer CHBS se fundó en

1943 en el Hospital Nacional “2 de Mayo” de ciudad de Lima, con apoyo de la Cruz Roja Internacional <sup>(12)</sup>.

Según define la Ley N° 26454, “los CHBS son establecimientos destinados a la extracción de sangre humana, para transfusiones, terapias preventivas y la investigación; funcionan con licencia sanitaria y están encargados de asegurar la calidad de ésta y sus componentes durante la obtención, procesamiento y almacenamiento” <sup>(13)</sup>. Estos realizan obligatoriamente las pruebas correspondientes a la sangre y sus componentes según las normas internacionales vigentes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) <sup>(13)</sup>.

#### **A. Marco legal.**

Los bancos de sangre (BS), como parte de los servicios de la salud, ven sus funciones y competencias reconocidas y delimitadas dentro de un marco legal en el Perú. A continuación, las leyes bajo las cuales se rigen:

- ✓ Ley N° 26454: Se declara de orden público e interés nacional la obtención, donación, conservación, procesamiento, transfusión y suministro de sangre humana. Creación del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS).
- ✓ Decreto Supremo N° 03-95-SA: Aprueban el Reglamento de la Ley 26454, que declara de orden público e interés nacional la obtención, donación, conservación, procesamiento, transfusión y suministro de sangre humana.
- ✓ Resolución Ministerial N° 628-2006/MINSA: Aprueba el Documento Técnico “Lineamientos de Política del PRONAHEBAS”.
- ✓ Resolución Ministerial N° 614-2004/MINSA: Aprueban el Sistema de Gestión de la Calidad del PRONAHEBAS.
- ✓ Resolución Ministerial N° 283-99-SA/DM: Establece las Normas de Procedimientos para el Control, Medidas de Seguridad, Sanciones en relación con la Obtención, Donación, Conservación, transfusión y Suministro de Sangre Humana.
- ✓ Resolución Ministerial N° 210-2011/MINSA: Aprueba Directiva Sanitaria N° 040-MINSA/DGSP V.01 “Directiva Sanitaria para la Suscripción de Convenios

Interinstitucionales entre Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre Tipo I y Tipo II”.

- **Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS).**

En mayo de 1995, bajo la Ley N° 26454 (reglamentada por Decreto Supremo N° 03-95-SA), se declara “de orden público e interés nacional la obtención, donación, conservación, procesamiento, transfusión y suministro de sangre humana, sus componentes y derivados” <sup>(13)</sup>. El MINSA, reconocido como es el organismo competente para la aplicación de esta Ley, se ve con la necesidad de crear el Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS), bajo las disposiciones desarrolladas en el Artículo 2°. Así, el PRONAHEBAS es definido como órgano competente del MINSA y se conforma por dos niveles: el normativo y el operativo; este último constituido por los diferentes CHBS públicos y privados, organizados en una Red <sup>(13)</sup>. El propósito del PRONAHEBAS “es normar, coordinar, supervisar y evaluar el funcionamiento de la Red de Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre con el fin de proporcionar sangre segura, sus componentes y derivados, en calidad y cantidad necesaria” <sup>(13)</sup>. Dos años después, en 1997, PRONAHEBAS inicia sus actividades, tal como señala la RM N° 628-2006/MINSA <sup>(4)</sup>.

## **B. Clasificación de los Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre.**

La Directiva Sanitaria N° 040 MINSA/DGSP V.01, aprobada por RM N° 210-2011/MINSA, señala que en el Perú se reconocen 2 tipos de Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre, y estos son clasificados de acuerdo a su complejidad, además de atribuirles funciones específicas a cada uno.

- **Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre tipo I.**

Se trata de un establecimiento adscrito al registro nacional de Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre del PRONAHEBAS. Se encarga de la recepción, almacenamiento y transfusión de sangre y hemocomponentes provenientes de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre tipo II en un

marco de convenio de partes <sup>(5)</sup>. Además, promueve activamente la promoción de la donación voluntaria de sangre con el objetivo de alcanzar un stock ideal de sangre 100% provenientes de donantes voluntarios <sup>(5)</sup>.

- **Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre tipo II.**

Se trata de un establecimiento adscrito al registro nacional de Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre del PRONAHEBAS. Se encarga de la “captación, selección, examen físico, obtención, realización de pruebas inmunohematológicas del donante, fraccionamiento, tamizaje, conservación, transfusión y transferencia de unidades de sangre y hemocomponentes” <sup>(5)</sup>. Dentro de sus competencias se encuentra la promoción activa de la donación voluntaria de sangre con el objetivo de lograr un stock ideal de sangre 100% proveniente de donantes voluntarios <sup>(5)</sup>.

### **C. Pruebas de laboratorio.**

La sangre donada debe analizarse siempre con el fin de garantizar su calidad y seguridad, por ello las unidades de sangre captadas pasan necesariamente por una serie de procedimientos y análisis antes de ser consideradas como “aptas” para su almacenamiento, conservación y posterior transfusión. Las pruebas que se realizan comprenden técnicas inmunohematológicas e inmunoserológicas <sup>(1, 14)</sup>.

- **Pruebas inmunohematológicas.**

Tienen como objetivo confirmar y determinar el grupo sanguíneo (GS) de la unidad dentro de los sistemas mayores que son el ABO (A, B, AB y O) y Rh (D, C, c, E y e); además de también poder ubicarlo dentro de otros sistemas menores pero de gran importancia como el sistema MNS, P y Kell <sup>(1)</sup>. De igual forma, se busca la presencia de los llamados “anticuerpos irregulares”, estos son anticuerpos que normalmente no se encuentran presentes en la sangre y su presencia se explica cuando la persona ha sido expuesta a los antígenos de un GS ajeno, como se da en los embarazos o transfusiones previas. La presencia de estos anticuerpos puede ser causa de reacciones transfusionales adversas, por lo

que se recomienda evitar el uso de los hemocomponentes que demuestren su presencia <sup>(1, 14)</sup>.

#### ● Pruebas inmunoserológicas.

Llamado también “tamizaje de hemotransmisibles”. Estas pruebas son de carácter obligatorio y tienen como objetivo detectar la presencia de antígenos y/o anticuerpos (marcadores infecciosos) relacionados con las infecciones hemotransmisibles del Virus de la Inmunodeficiencia Humana de tipo I y tipo II (VIH-I y VIH-II), Virus de la Hepatitis B (HBsAg y IgM anti-HBc), Virus de la Hepatitis C (VHC), Virus Linfotrópico Humano de Células T (HTLV-I y HTLV-II), *Treponema pallidum* (Sífilis) y *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de Chagas)<sup>(1, 14)</sup>. El hemocomponente que demuestre reactividad o reacción indeterminada para alguno de estos marcadores es considerado como “no apto” y es eliminado inmediatamente de acuerdo a las normas vigentes de bioseguridad <sup>(1, 14)</sup>. Finalmente, serán calificadas como “aptas” para su uso clínico aquellas unidades que no presenten reactividad a ninguno de estos marcadores infecciosos, ni demuestren la presencia de anticuerpos irregulares, “procediendo inmediatamente con su debido registro, etiquetado, fraccionamiento y almacenamiento” <sup>(1, 14)</sup>.

#### D. Fraccionamiento de la sangre.

Toda unidad de sangre considerada como apta deberá ser separada en cada uno de sus componentes para una mejor conservación y uso terapéutico <sup>(14, 15)</sup>. Es a este proceso al que se le denomina “fraccionamiento de la sangre”, y a los productos obtenidos se les llama “hemocomponentes”. Esta etapa es ejecutada dentro de las primeras 6 horas de extraída la unidad para así conseguir sacar el máximo beneficio de sus componentes <sup>(1, 14, 15)</sup>.

A su vez, son cuatro los hemocomponentes que se pueden obtener: 1 unidad de glóbulos rojos, 1 unidad de concentrado de plaquetas, y 1 unidad de plasma fresco congelado o 1 unidad de crioprecipitado <sup>(1, 14, 15)</sup>.

### **E. La unidad de glóbulos rojos (UGR).**

Conocida también como “paquete globular” o “concentrado de hematíes” <sup>(1)</sup>. Se trata de un concentrado de eritrocitos provenientes de las unidades de sangre conseguidas de las donaciones. Se obtienen por el método de sedimentación, centrifugación o son recolectados por aféresis <sup>(1)</sup>, y brindan un incremento de la masa celular sanguínea, además de un discreto aumento del volumen plasmático <sup>(15)</sup>. Este hemocomponente se anticoagula con citrato de sodio y otros aditivos o preservantes <sup>(1)</sup>. El volumen aproximado es de 250 mL, contiene entre 50-60 g de hemoglobina y 250 mg de hierro <sup>(1)</sup>, y está indicada en pacientes que requieran con urgencia reestablecer la capacidad de transporte del oxígeno (O<sub>2</sub>) a los tejidos <sup>(15)</sup>. Dependiendo de la solución conservante, el hematocrito de la unidad es de aproximadamente 60% a 75% <sup>(1)</sup>, y su conservación se da en refrigeración a una temperatura de  $4 \pm 2$  °C por 42 días <sup>(1, 15)</sup>.

#### **● Actividad metabólica en los hematíes.**

La función de hematíe es realizar el intercambio gaseoso, para ello cuenta con la hemoglobina (Hb), que es la proteína más abundante en su interior. Forrellat <sup>(16)</sup> coloca a la Hb como pieza clave de su actividad metabólica, y asegura que esta actividad en su interior “está dirigida a poder brindar las condiciones físico-químicas para que esta pueda cumplir con sus actividades, estas condiciones comprenden el abastecimiento constante de energía y la defensa contra los agentes oxidantes” <sup>(16)</sup>.

#### **\* Metabolismo energético.**

Con el fin de poder realizar todos sus procesos metabólicos adecuadamente, los hematíes poseen, dentro de su maquinaria bioquímica, rutas energéticas que están enfocadas en mantener un suministro constante de energía. Entre las rutas energéticas más importantes en el hematíe destaca la vía de Embden-Meyerhof, también llamada vía glucolítica o simplemente glucólisis. Esta cadena de reacciones inicia la oxidación de la glucosa (C6) hasta producir dos moléculas de ácido pirúvico (C3). Esta ruta anaerobia, tanto a nivel



enzimático como el número de reacciones constituye una secuencia común y muy semejante en los organismos procariotas y eucariotas. La energía que se obtiene durante este proceso (alrededor del 5% de la total disponible) se produce a nivel de sustrato y cuantitativamente corresponde a dos moléculas de ATP (Adenosin trifosfato) y dos moléculas de NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina), estos equivalentes reductores son consumidos en la producción de lactato. A nivel de hematíe también debe considerarse que la formación de 2,3-bifosfoglicerato disminuye la producción de ATP. <sup>(17)</sup>.

#### **\* Sistema oxido-reductor.**

El sistema de defensa antioxidante (SDA) está constituido por un grupo de sustancias conocidas como antioxidantes, que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este <sup>(18, 19)</sup>. El antioxidante, al colisionar con el radical libre (RL), le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un RL débil no tóxico y que en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes <sup>(18, 19)</sup>. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que forman parte de los EROs o sustratos que al regenerarse forman parte de los mecanismos de defensa antioxidantes <sup>(20, 21, 23)</sup>. Los antioxidantes cumplen la función de eliminar o atenuar la injuria producida por los RL y otras especies reactivas, evitando la formación o neutralizándolos <sup>(18, 19)</sup>.

#### **F. Capacidad antioxidante del hematíe.**

El estudio de la capacidad antioxidante del hematíe requiere evaluar la respuesta total de su sistema de defensa antioxidante (SDA) y de cada uno de los antioxidantes que lo componen.

- **Capacidad antioxidante total.**

Se refiere al sistema de defensa antioxidante (SDA) y toda su capacidad de respuesta frente a la injuria de los radicales libres (RL), retrasando o previniendo la oxidación de las moléculas de importancia biológica. <sup>(18, 19)</sup>.

- \* **El radical ABTS.**

El ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS), es un radical sintético, fotosensible e hidrosoluble, de color azul verdoso, que se emplea para el estudio e investigación de los RL con el fin de evaluar la respuesta antioxidante total de una muestra problema frente a su acción <sup>(11, 24)</sup>. El método empleado fue descrito por Re *et al.* en 1999 <sup>(24)</sup>.

- **Antioxidantes enzimáticos.**

- \* **Superóxido dismutasa (SOD).**

Fueron descubiertas en 1968 por McCord y Fridovich, aunque la publicación de su trabajo se produjo un año después <sup>(20)</sup>. “Las SOD constituyen un grupo de metaloenzimas presentes frecuentemente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados; siendo esenciales para la defensa contra la toxicidad producida por los metabolitos parcialmente reducidos, generados durante la reducción biológica normal del oxígeno molecular” <sup>(20, 21)</sup>. Se dividen en 2 familias filogenéticas distintas: las cobre-zinc superóxido dismutasas (Cu/Zn-SOD), y las hierro-manganeso superóxido dismutasas (Fe/Mn-SOD) <sup>(20)</sup>. El sustrato de todas las SOD es el anión superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ), y producto de la reacción catalítica se genera peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno ( $O_2$ ) de acuerdo a la siguiente reacción:



Estas proteínas conforman el único grupo de enzimas conocidas que actúan sobre un radical, y todas sus isoformas catalizan la reacción de dismutación del  $O_2^{\bullet -}$  con similar eficiencia <sup>(21)</sup>. Aunque se ha visto que el  $O_2^{\bullet -}$  puede

dismutar espontáneamente a  $O_2$  y  $H_2O_2$  a una velocidad de aproximadamente  $10^5 M^{-1}s^{-1}$ , las SOD catalizan este mismo proceso a una velocidad de  $7 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$ , lo que garantiza la neutralización efectiva de este radical, lo que la convierte en una de las enzimas conocidas más eficientes <sup>(20, 21)</sup>.

#### **\* Catalasa (CAT).**

La catalasa es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido <sup>(22)</sup>. Estructuralmente consiste en una metaloproteína homotetramérica, de peso molecular entre 210-280 kDa. Las subunidades se unen entre sí por enlaces no covalentes, y cada una se compone de un grupo prostético de protoporfirina IX, este grupo prostético contiene hierro y representa el 1,1 % y 0,09 % del peso molecular total de la enzima <sup>(23)</sup>. Además, en el ser humano y en otras especies, la CAT posee moléculas de nicotinamín adenín dinucleótido fosfatado en su forma reducida (NADPH) como parte de su estructura <sup>(23)</sup>.

La CAT, como parte del SDA, está involucrada en la destrucción del  $H_2O_2$  generado durante el metabolismo celular, lo que incluye el producido por la actividad de SOD durante la dismutación del radical superóxido <sup>(22, 23)</sup>. Cinéticamente, esta enzima se caracteriza por su alta capacidad de reacción y por su relativamente baja afinidad por el sustrato ( $K_m$  elevado) <sup>(22)</sup>. Presenta dos funciones: la catalásica y la peroxidásica. En la reacción catalásica se requiere de dos moléculas de  $H_2O_2$ , dónde una funciona como donador y la otra como aceptor de electrones (Gráfico N° 1). El mecanismo de reacción sigue dos pasos: en el primero ocurre la oxidación, dónde el  $Fe^{III}$  pasa a  $Fe^{IV}$  (grupo ferroxilo) debido a la reducción de una molécula de  $H_2O_2$ , formándose un intermediario llamado “compuesto I” <sup>(22)</sup>. En el segundo paso la otra molécula de  $H_2O_2$  produce  $H_2O$  y  $O_2$  mediado por la reducción del “compuesto I” y regresando la CAT a su estado inicial. En la reacción peroxidásica, el “compuesto I” puede oxidar el metanol, el etanol, el formato

o el nitrato utilizando una molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como oxidante, lo que explica algunos de los efectos neurológicos del alcohol en humanos <sup>(22)</sup>.

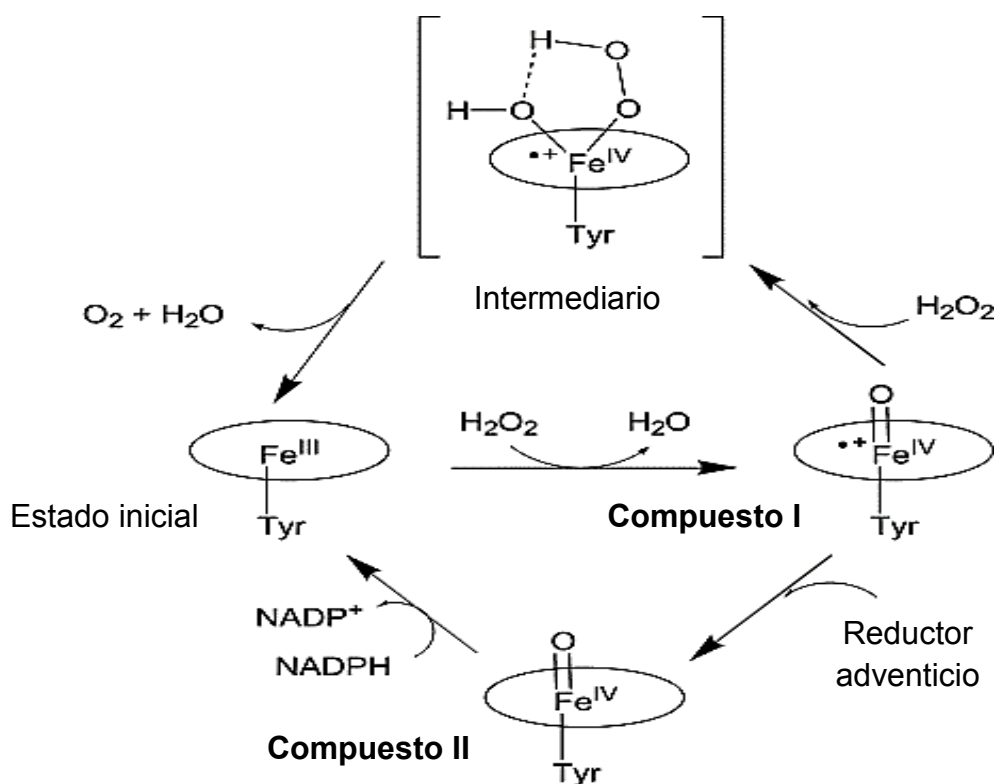


Gráfico N° 1. Mecanismo de reacción de la catalasa.

Tomado de Meunier <sup>(22)</sup>.

## ● Antioxidantes no enzimáticos.

### \* Vitamina C (Vit C).

Se le considera como uno de los más potentes antioxidantes naturales <sup>(25)</sup>. En el ser humano, constituye el antioxidante exógeno de mayor abundancia encontrado en sangre y fluidos intersticiales, protegiendo de la lipoperoxidación <sup>(25)</sup>. Su estructura química derivada de la glucosa le confiere su carácter hidrosoluble, y actúa de manera efectiva contra el radical aniónico superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y el oxígeno singlete <sup>(25)</sup>. Su reacción como antioxidante produce compuestos oxidados relativamente estables que pueden ser biológicamente regenerados mientras que las especies reactivas de oxígeno son reducidas a agua, lo que finalmente se refleja en la protección de las estructuras celulares <sup>(25)</sup>. A nivel intracelular,

la vitamina C potencia la acción de la vitamina E (radical tocoferilo), mediante la formación del radical ascorbilo producto de esta interacción y compromete también la actividad del GSH (Glutación reducido), reestableciéndose sus formas activas, después de haber disipado las especies reactivas del oxígeno <sup>(25)</sup>.

**\* Glutación reducido.**

Constituye uno de los principales antioxidantes endógenos no enzimáticos, presente de manera importante en el glóbulo rojo como cosustrato de la enzima glutación peroxidasa. Además de ejercer como un importante reductor también juega un papel importante en reacciones de conjugación. Su estructura corresponde a la de un tripéptido formado por ácido glutámico, cisteína y glicina <sup>(25, 39)</sup>.

**G. Daño oxidativo en el hematíe.**

Se refiere al daño a nivel de macromoléculas provocado por los RL, situación que ocurre debido a una respuesta ineficiente del SDA <sup>(18, 19)</sup>. Las causas de esta respuesta ineficiente son múltiples, destacando la influencia de la dieta <sup>(26)</sup> y patologías de etiología múltiple <sup>(27, 28, 29)</sup>; así como el almacenamiento, en el caso de la unidad de glóbulos rojos (UGR) <sup>(2, 3, 7)</sup>.

**● Lipoperoxidación.**

También peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo <sup>(29)</sup>. Se trata del proceso de daño oxidativo más común <sup>(18, 19, 29, 30)</sup> y afecta principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados <sup>(29, 30)</sup>; estos constituyen el principal componente de la membrana celular y de otros compuestos especializados derivados de los ácidos grasos poliinsaturados como las prostaglandinas <sup>(29, 30)</sup>. A nivel de lipoperoxidación de las membranas, este proceso deviene en la pérdida de la permeabilidad de la membrana, produciéndose edema y muerte celular, dependiendo de la severidad del daño <sup>(3, 29, 30)</sup>. El proceso lipoperoxidativo se produce de manera espontánea por la presencia de EROs, estas series de

reacciones generan diversos compuestos que pueden ser evaluados a nivel de laboratorio. Siendo uno de los más comúnmente medidos el malondialdehído<sup>(29)</sup>.

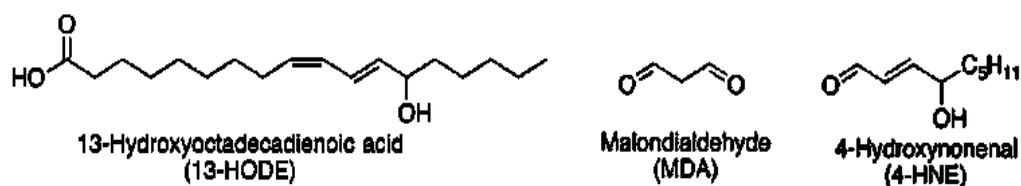


Gráfico N° 2. Compuestos derivados de la lipoperoxidación.

Tomado de Gaschler & Stockwell<sup>(30)</sup>.

### \* Malondialdehído.

El malondialdehído (MDA) es el metabolito final que se obtiene del proceso de lipoperoxidación inducida principalmente por EROs<sup>(29, 30, 31)</sup>. La determinación de la concentración de MDA es el indicador más usado en el laboratorio como parámetro de peroxidación lipídica en diversos fluidos del organismo empleando diversas técnicas<sup>(29, 31, 32)</sup>. Una de las técnicas de medición fue descrita por Buege y Aust<sup>(33)</sup> y está basado en la capacidad de reaccionar con el ácido tiobarbitúrico en medio ácido.

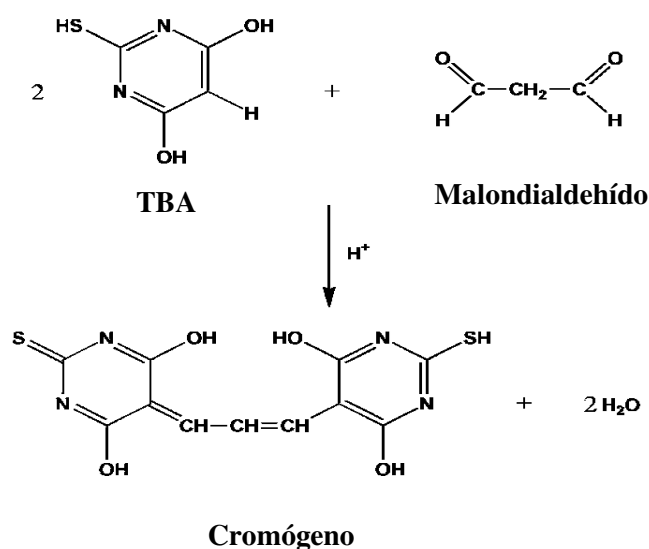


Gráfico N° 3. Reacción del malondialdehído con el ácido tiobarbitúrico. Se produce un complejo de color con absorbancia a 535 nm.

Tomado de Antolovich *et al*<sup>(32)</sup>.

## H. Lesiones en el hematíe durante el almacenamiento.

Durante el almacenamiento en las condiciones de un Banco de Sangre, los hematíes sufren cambios bioquímicos y morfológicos que pueden ser comunes al proceso de envejecimiento <sup>(2, 3, 7, 8)</sup>, sin embargo existen algunas características (Tabla N° 1) que son propias de esta condición <sup>(3)</sup> debido a que las condiciones de almacenamiento implican un flujo nulo de la sangre. Estos cambios pueden conducir a situaciones semejantes a procesos que llevan a la muerte prematura de los glóbulos rojos denominado eriptosis <sup>(34)</sup>.

Tabla N° 1. Lesiones frecuentes en hematíes almacenados: cambios bioquímicos y morfológicos.

Cambios progresivos en los hematíes.	Acumulación en el sobrenadante.
↓ pH intracelular (Acidosis).	↑ Lactato.
↓ ATP por metabolismo lento.	↑ K <sup>+</sup> extracelular.
↓ 2,3-DPG, ↓ saturación de O <sub>2</sub> .	↑ Hemólisis (Hb en plasma)
Cambios morfológicos por daño en el citoesqueleto.	↑ Daño proteínas y lípidos (oxidación).
Perdida de la función de la bomba de cationes.	↑ Micropartículas de membrana en suspensión.
↑ Lipoperoxidación por daño oxidativo.	↑ Detritus celular.
Pérdida de membrana celular.	
Perdida de la asimetría de los fosfolípidos de membrana.	
Hemólisis.	

Tomado de Sparrow <sup>(3)</sup>.

## 1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.

- ✓ **Antioxidante:** “Grupo de sustancias que al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este” <sup>(18)</sup>. Su función es impedir la injuria producida por los radicales libres y otras especies reactivas <sup>(19)</sup>.
- ✓ **Alteraciones oxido-reductoras:** “Desequilibrio entre los sistemas oxidativos y los mecanismos antioxidantes, a favor de los primeros, llevando a la generación de grandes cantidades de radicales libres o detrimento de la velocidad de neutralización de éstos” <sup>(10, 11)</sup>. “Este proceso puede conducir a la oxidación de biomoléculas y la consiguiente pérdida de sus funciones biológicas; así como al descontrol homeostático junto al potencial daño oxidativo contra las células y tejidos” <sup>(18, 19)</sup>.
- ✓ **Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre:** “Son establecimientos destinados a la extracción de sangre humana, para transfusiones, terapias preventivas y la investigación; están encargados de asegurar la calidad de ésta y sus componentes durante la obtención, procesamiento, almacenamiento y distribución” <sup>(5)</sup>.
- ✓ **Condiciones Estándar:** “Es la ejecución clara y efectiva del conjunto de políticas, procesos, procedimientos y recomendaciones que todos los Centros de Hemoterapia de Bancos de Sangre están obligados a cumplir de acuerdo a ley y que son normados por las instituciones competentes en la materia (PRONAHEBAS, OMS, etc.)” <sup>(1, 2, 6)</sup>.
- ✓ **Hemocomponentes:** Se refiere al conjunto de componentes de la sangre que son obtenidos en la etapa de “Fraccionamiento” para una mejor conservación y uso terapéutico. Están conformados por hasta 4 tipos: unidad de glóbulos rojos, concentrado de plaquetas, plasma fresco congelado y el crioprecipitado <sup>(1, 15)</sup>.



- ✓ **Unidad de Glóbulos Rojos (UGR):** Conocida también como “paquete globular” o “concentrado de hematíes”. Se trata de un concentrado de eritrocitos provenientes de donaciones y obtenidos por el método de sedimentación, centrifugación o recolectados por aféresis; estos brindan un incremento de la masa celular sanguínea, además de un discreto aumento del volumen plasmático <sup>(1, 15)</sup>.

### 1.4.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

El tiempo de conservación de los hematíes en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre produce la modificación de la actividad oxidoreductora de estos, causando deterioro, trayendo como consecuencia la formación paulatina de especies reactivas del oxígeno.

## CAPÍTULO II: MÉTODOS.

## 2.1 DISEÑO METODOLÓGICO.

### 2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Estudio cuantitativo de tipo observacional.

### 2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

Diseño observacional-analítico, prospectivo y longitudinal.

### 2.1.3 POBLACIÓN.

Esta se constituyó de 45 unidades de glóbulos rojos almacenados en las condiciones del Servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión”.

### 2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO.

La muestra se compuso de 6 unidades de glóbulos rojos, las cuales cumplieron con los criterios establecidos para ser incluidas o excluidas durante el periodo del estudio. El tipo de muestreo fue no probabilístico y por conveniencia debido al reducido tamaño de la población.

#### 2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Unidades de glóbulos rojos recién fraccionadas, catalogadas como “aptas” para su conservación, y que se mantuvieron los 42 días en el Servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión”.

#### 2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Unidades de glóbulos rojos previamente incluidas pero que en el camino fueron requeridas para transfusión y por tanto ya no pudieron aportar la información que se buscaba. Unidades que hayan sido destinadas a un paciente específico.

### 2.1.5 VARIABLES.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Actividad oxido-reductora.	Capacidad de balancear las reacciones prooxidantes y antioxidantes en los glóbulos rojos.	Marcadores bioquímicos enzimáticos y no enzimáticos que denotan la actividad oxido reductora.	Estado óxido-reductivo enzimático.  Estado óxido-reductivo no enzimático.	Superóxido dismutasa  Catalasa  Capacidad antioxidante total (ABTS)  Niveles de malondialdehído (MDA)
Tiempo.	Magnitud física que permite ordenar la secuencia de los sucesos, estableciendo un pasado, presente y futuro.	Tiempo inicial: momento en el que se obtiene los glóbulos rojos para ser almacenados.  Tiempo medio: día 21 de almacenamiento  Tiempo final: día 42 de almacenamiento	----	Tiempo cero  Tiempo 21.  Tiempo 42

#### 2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Se aplicó técnicas de estudio analíticas basadas en los protocolos de trabajo descritos por los autores Marklund & Marklund <sup>(35)</sup>, Aebi <sup>(36)</sup>, Re *et al.* <sup>(24)</sup>, y Buege y Aust <sup>(33)</sup>. En cuanto al instrumento, se trata de una ficha de recolección de datos diseñada con el fin de poder contener toda la información de relevancia para el desarrollo de esta tesis (Anexo N° 1). La validez de contenido se obtuvo por juicio de expertos, y se contó con los comentarios favorables de tres profesionales: Lic. TM Hector Gregorio Hilario Coronel, Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas y Dra. Sofía Esther Romero Mederos; el modelo de informe de juicio de expertos se puede apreciar en la sección anexos (Anexo N° 2), mientras que la confiabilidad se logró mediante el método “prueba-reprueba” través de un ensayo piloto.

#### 2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS.

Para el desarrollo de esta tesis, se presentó el correspondiente proyecto de investigación en la oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión”, adjuntando la aprobación respectiva por parte de la Facultad de Medicina de Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo N° 3), y se solicitó por la vía administrativa la autorización de la dirección general del hospital con el fin de poder hacer uso de sus materiales e infraestructura en beneficio de la investigación (Anexo N° 4).

La obtención y tratamiento de las muestras cumplió estrictamente el cronograma establecido en el proyecto de investigación aprobado por Resolución Decanal N° 2382-D-FM-2018 (Anexo N° 3). Las técnicas utilizadas fueron mencionadas previamente, se trata de cuatro ensayos bioquímicos para medir actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD), actividad enzimática de catalasa (CAT), estado oxido reductivo mediante capacidad antioxidante equivalente a ácido ascórbico (AAEAC-ABTS), y estado oxido reductivo mediante concentración de malondialdehído (MDA).

- Actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD): La enzima inhibe la autooxidación del pirogalol en medio alcalino, según lo descrito por Marklund &

Marklund en 1974 <sup>(35)</sup>. En la cubeta de reacción , se mezcla 890  $\mu\text{L}$  de buffer Tris-HCl 50 mM (pH 8.2) con 50  $\mu\text{L}$  de muestra de hematíes, se incuba a 37°C por un minuto y la reacción se inicia añadiendo 60  $\mu\text{L}$  de pirogalol preparado en 10 mM HCl. Se mide la inhibición de la autooxidación del pirogalol durante 3 minutos. La actividad enzimática se expresa como USOD/mL. La definición de la unidad (USOD) es: 1 USOD = mitad del cambio de absorbancia 0.02/min  $\pm$  10%, leído a una longitud de onda de 420 nm <sup>(35)</sup>.

- Actividad enzimática de catalasa (CAT): Se encarga de reducir el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). El ensayo fue descrito por Aebi en 1984 <sup>(36)</sup>. Los hematíes hidrolizados y diluidos son colocados en un volumen de 800  $\mu\text{L}$  con 400  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30 mM preparado en buffer fosfato 50 mM pH 7.0, a temperatura ambiente (25°C). La descomposición del peróxido de hidrógeno produce el decaimiento de la absorbancia que se mide durante un minuto a 240 nm en el espectrofotómetro. El resultado de la actividad se expresa en U/mL. Se emplea el coeficiente de extinción molar del  $\text{H}_2\text{O}_2$  (240 nm):  $43,6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  <sup>(36)</sup>.
- Se estableció la relación de las enzimas SOD y CAT (SOD/CAT) para evaluar la eficiencia de la defensa antioxidante enzimática en los glóbulos rojos almacenados.
- Estado oxido reductivo mediante capacidad antioxidante equivalente a ácido ascórbico (AAEAC-ABTS): El ensayo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) fue descrito por Re *et al.* en 1999 <sup>(24)</sup>, y está basado en la transferencia de electrones que los diferentes compuestos antioxidantes (como el ácido ascórbico) donan para reducir e inhibir el radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . La lectura de la absorbancia se realiza a 734 nm y los resultados se expresan como mg-equivalentes de ácido ascórbico / mL.
- Estado oxido reductivo mediante concentración de Malondialdehído (MDA): “El MDA es un subproducto de la lipoperoxidacion” <sup>(29, 30, 31)</sup>. La técnica de medición aplicada fue la reportada por Buege y Aust en 1978 <sup>(33)</sup>. “Se coloca 0.3 mL de la muestra a medir (concentrado de membranas de hematíes) con 0.6 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 20% en baño maría a 100°C por 10

minutos, se enfría a chorro de caño hasta temperatura ambiente. Se agrega 0.9 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,67% preparado en HCL 0,25N, nuevamente se incuba en baño maría 100°C por 30 minutos y se enfría en baño de hielo. Se centrifuga a 5000 rpm por 7 minutos y el sobrenadante se mide a la longitud de 535 nm en el espectrofotómetro. La cantidad de MDA se calcula usando un coeficiente de extinción molar de  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  y expresado como nmoles de MDA por mililitro (mL) de membrana de hematíes”<sup>(33)</sup>.

En cuanto a los tiempos establecidos y los datos obtenidos, estos fueron registrados en el instrumento de recolección de datos (Anexo N° 1).

Las seis unidades de glóbulos rojos (UGR) disponibles fueron agrupadas según sus características (Anexo N° 5). De cada UGR disponible, se extrajo 1 mL de hematíes para los cuatro ensayos correspondientes a cada día de análisis. La muestra se obtuvo en condiciones de esterilidad al interior de la cabina de flujo laminar propiedad del laboratorio central del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión” (HNDAC) mediante la técnica de punción sobre la tubuladura satélite. Obtenidas las muestras de hematíes, estas fueron debidamente codificadas y transportadas con prontitud a las instalaciones del Instituto Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” (CIBN) haciendo uso de una cadena de frío proporcionada por el Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre (CHBS) del HNDAC. El correspondiente análisis de las muestras se efectuó inmediatamente en el laboratorio III-2 “Marino Villavicencio N.” del CIBN.

Antes de iniciar cada ensayo, las muestras de hematíes fueron sometidas estrictamente a cuatro lavados consecutivos con solución salina fisiológica (NaCl 0.9 %) a 3500 rpm x 5 min; esto con el fin de eliminar cualquier posible interferente como residuos de plasma y el anticoagulante. Con las muestras de hematíes debidamente lavadas, se dio paso al preparado de las muestras problema. El objetivo de este estudio es evaluar los cambios en la actividad oxido-reductora que se producen en los hematíes en las condiciones estándar de un CHBS, por tanto, y debido a que los analitos de interés se encuentran en el interior del hematíe y el MDA en la membrana celular, se procedió con la inmediata lisis de estos usando el

agua bidestilada proporcionada por el laboratorio III-2 del CIBN. Con el fin de obtener el lisado de hematíes (en adelante “hemolisado”) y el concentrado de membranas de hematíes para en el ensayo MDA, se desarrolló y aplicó un protocolo de trabajo a todas las muestras (Anexo N° 6). Para el ensayo de Catalasa se utilizó un hemolisado diluido 1/12000, este valor se obtuvo mediante un cálculo matemático (Anexo N° 7). Con las muestras de trabajo listas para evaluación se procedió a aplicar los protocolos previamente descritos. Finalmente, cada ensayo bioquímico se trabajó por duplicado y los resultados obtenidos se detallaron en promedios aritméticos mediante el uso de tablas.

En cuanto al manejo estadístico, como se mencionó, los resultados fueron expresados en promedios aritméticos. El análisis estadístico inferencial se hizo aplicando ANOVA con un nivel de significancia del 5%; además, para los ensayos que demostraron variación estadística significativa, se aplicó la prueba de Tukey (para determinar en qué grupos existe esta diferencia), y el coeficiente de correlación de Pearson y la prueba de Fisher. El software estadístico de elección fue el programa SPSS 24.0.

#### 2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

Este trabajo no representó riesgo alguno ni para los pacientes, ni para la institución de salud, ni para la universidad, ni para el tesista. Para su ejecución se aplicaron las normas de investigación en seres humanos contempladas en la declaración de Helsinki, y cuenta con la aprobación respectiva por parte de la Facultad de Medicina de Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo N° 3), y la autorización de la dirección general del Hospital Nacional “Daniel Alcides Carrión” (Anexo N° 4).

Con la documentación correspondiente, y el compromiso ético de guardar de manera confidencial toda la información personal, esta investigación se pudo realizar de manera oportuna y satisfactoria.



## CAPÍTULO III: RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en los ensayos se muestran a continuación y de manera ordenada mediante el uso de tablas, cuadros y gráficos.

Tabla N° 2. Resultados de la actividad enzimática de SOD y CAT en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizados en tres tiempos.

Muestra \ Tiempo	SOD			CAT		
	Día 0	Día 21	Día 42	Día 0	Día 21	Día 42
Muestra 1	14.15	15.56	15.85	34.51	30.51	31.58
Muestra 2	17.05	14.61	17.00	33.36	22.54	37.78
Muestra 3	13.68	18.67	19.89	35.26	25.80	30.39
Muestra 4	16.25	18.67	21.49	40.00	32.20	36.37
Muestra 5	14.44	15.41	14.17	43.14	34.89	33.89
Muestra 6	14.65	15.70	13.75	36.50	27.29	33.65

Para los resultados de SOD:

- Los resultados obtenidos se expresan en Unidades SOD por 1 mL de Glóbulos Rojos (USOD/mLGR).
- Al aplicar ANOVA se obtuvo un p-valor  $> 0.05$ , indicando que la variación de los valores no posee significancia estadística.

Para los resultados de CAT:

- Los resultados obtenidos se expresan en Unidades CAT  $\times 10^3$ /mL (UCAT/mL).
- Al aplicar ANOVA se obtuvo un p-valor  $< 0.05$ , indicando significancia estadística en la variación de los valores. Con la prueba de Tukey se determinó que esta variación se encuentra entre los resultados obtenidos los días 0 y 21.

Tabla N° 3. Resultados de la relación de las actividades de las enzimas SOD/CAT en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos.

Muestra \ Tiempo	Día 0	Día 21	Día 42
Muestra 1	0.41	0.51	0.50
Muestra 2	0.51	0.65	0.45
Muestra 3	0.39	0.72	0.65
Muestra 4	0.41	0.58	0.59
Muestra 5	0.33	0.44	0.42
Muestra 6	0.40	0.58	0.41

- Los resultados expresados se obtuvieron de los ensayos SOD y CAT.
- Al aplicar ANOVA se obtuvo un p-valor  $< 0.05$ , indicando significancia estadística en la variación de los valores. Con la prueba de Tukey se determinó que esta variación se encuentra entre los resultados obtenidos los días 0 y 21.

Tabla N° 4. Resultados de capacidad antioxidante total mediante el ensayo AAEAC-ABTS en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos.

Muestra \ Tiempo	Día 0	Día 21	Día 42
Muestra 1	30.32	28.36	29.56
Muestra 2	28.71	27.19	30.75
Muestra 3	28.23	22.00	27.36
Muestra 4	28.06	25.35	27.53
Muestra 5	28.06	23.17	28.54
Muestra 6	27.83	23.34	29.90

- Los resultados obtenidos se expresan en gramos por decilitro (g/dL) equivalentes a ácido ascórbico.
- El cálculo de los resultados fue posible mediante el uso de una curva de calibración de propiedad del autor (Anexo N° 8).
- Al aplicar ANOVA se obtuvo un p-valor  $< 0.05$ , indicando significancia estadística en la variación de los valores. Con la prueba de Tukey se determinó que esta variación se encuentra entre los resultados obtenidos los días 0-21 y 21-42.

Tabla N° 5. Resultados de lipoperoxidación mediante el ensayo de MDA en las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos.

Muestra \ Tiempo	Día 0	Día 21	Día 42
Muestra 1	12.46	12.31	12.69
Muestra 2	5.81	6.15	5.88
Muestra 3	6.19	5.85	5.65
Muestra 4	8.85	8.96	9.19
Muestra 5	11.04	11.08	11.08
Muestra 6	7.19	7.23	7.35

- Los resultados obtenidos se expresan en nanomoles de MDA por 1 mL de membranas de hematíes (nmol/mL).
- Al aplicar ANOVA se obtuvo un p-valor  $> 0.05$ , indicando que la variación de los valores no posee significancia estadística.

Los resultados de los ensayos que tuvieron significancia estadística (ensayo CAT y ensayo AAEAC-ABTS) fueron analizados mediante la correlación de Pearson y la prueba de Fisher para la significancia. El resultado de este análisis (Tabla N° 6) muestra un coeficiente de correlación de 0.501 con significancia estadística (p-valor  $< 0.05$ ), pudiendo observarse la similitud de los comportamientos de ambos indicadores (Gráfico N° 4 y Gráfico N° 5).

Tabla N° 6. Coeficiente de correlación de Pearson para los ensayos CAT y AAEAC-ABTS de las seis muestras de glóbulos rojos almacenados y analizadas en tres tiempos.

Pearson's coeff (Fisher)	
corr	0.501
std err	0.250
z	2.062
p-value	0.039
Lower	0.027
upper	0.791

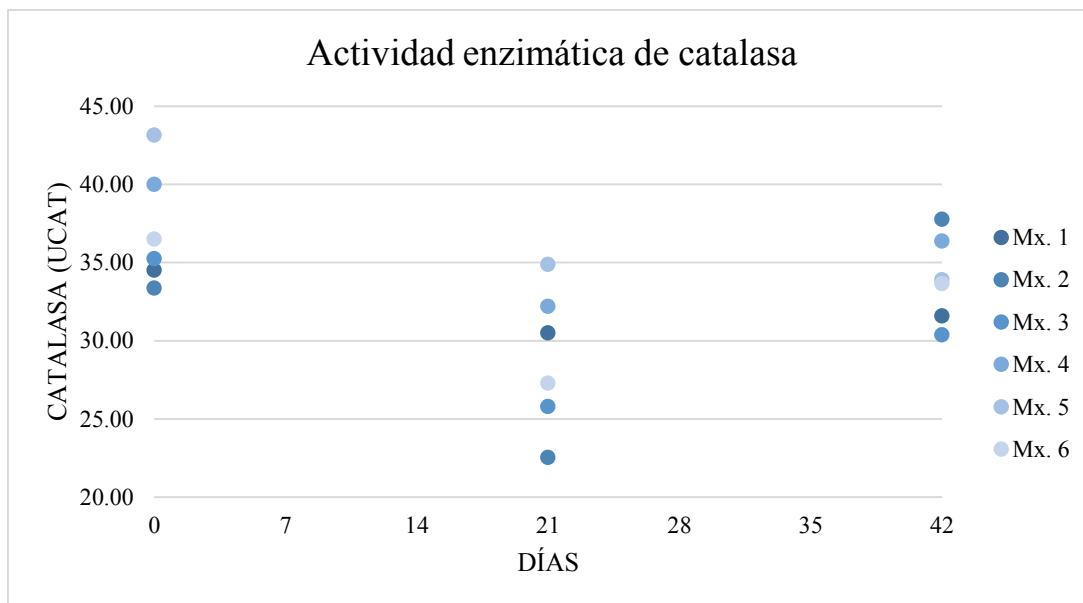


Gráfico N° 4. Actividad enzimática de catalasa en los glóbulos rojos durante el almacenamiento de 42 días.

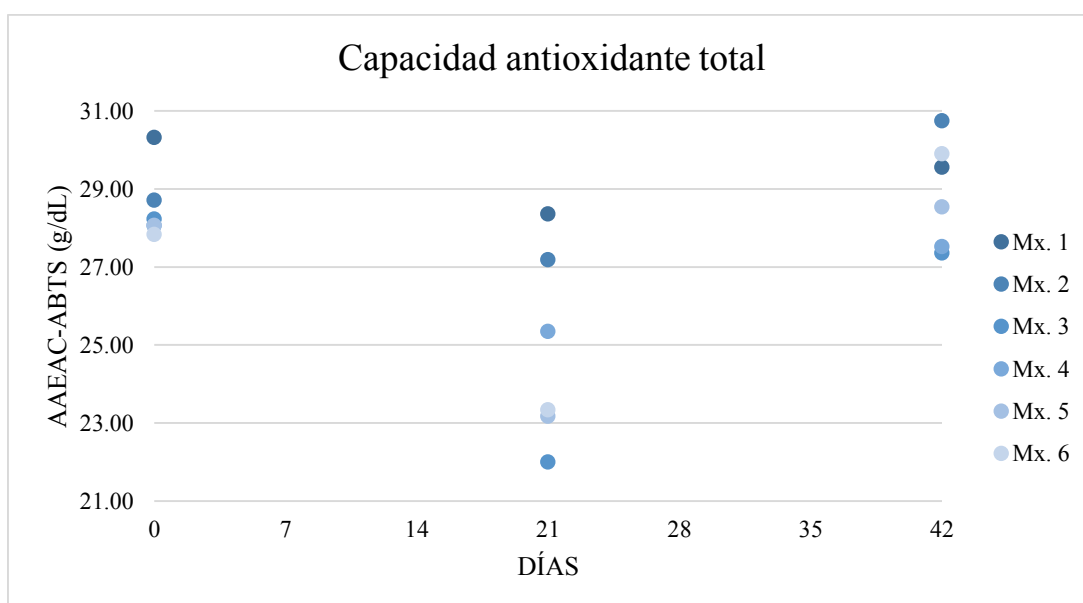


Gráfico N° 5. Capacidad antioxidante total en los glóbulos rojos durante el almacenamiento de 42 días.

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

Desde su aparición en los Estados Unidos, la llegada al Perú en 1943 <sup>(12)</sup> hasta la actualidad, la importancia de los Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre (CHBS) ha ido creciendo debido a su aporte crucial en beneficio de la salud humana, como consecuencia de ello sus métodos y procedimientos se han ido mejorando y refinando para poder así brindar bienes y servicios de mayor calidad en un constante ciclo de mejora continua <sup>(1, 6, 13, 14)</sup>.

La evaluación del sistema de defensa antioxidante (SDA) en las unidades de glóbulos rojos (UGR) se ha hecho cada vez más importante en el laboratorio clínico e investigación debido a las graves consecuencias a la salud que puede conllevar su desbalance oxidativo en el paciente que lo recibe <sup>(11, 18, 26, 28, 37)</sup>.

Los resultados obtenidos a nivel de las actividades de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) muestran un comportamiento diferente durante el almacenamiento en el tiempo evaluado. Teniendo en cuenta que el glóbulo rojo carece de capacidad de síntesis de nuevas proteínas, son sus capacidades de defensa, mantenimiento y recuperación las que deben sustentar su metabolismo y función durante el almacenamiento, así como la estabilidad de sus proteínas, incluyendo las enzimas, para evitar así las lesiones frecuentes (Tabla N° 1).

Para el caso de la actividad enzimática de SOD, esta no mostró diferencia significativa producto del almacenamiento durante 42 días, lo cual se sustenta en los resultados de las muestras analizadas (Tabla N° 2). La capacidad de esta enzima para mantener su actividad durante el tiempo de almacenamiento puede explicarse por su estructura y propiedades fisicoquímicas que le confieren protección ante el daño oxidativo, teniendo en cuenta que su sustrato es el radical libre superóxido <sup>(20, 21)</sup>. Otros estudios revisados <sup>(2, 8)</sup> han mostrado resultados opuestos, reportándose que el tiempo lleva a la disminución de la actividad de esta enzima, así también está el estudio de Deyhim *et al.* <sup>(38)</sup>, que si bien mostró disminución de la actividad de SOD en 35 días, fue el que mayor tiempo conservó la actividad de esta enzima.

En los resultados de la actividad de catalasa (Tabla N° 2) se obtuvo variación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), este hallazgo es importante debido a que la catalasa es la principal enzima que descompone al peróxido de hidrógeno a nivel de

eritrocito <sup>(22, 23)</sup>. Se observó una disminución en el día 21 (Gráfico N° 4) que resulta significativa comparado con el día inicial y manteniéndose en valores sin diferencia significativa hasta el final del almacenamiento. La catalasa es una enzima cuyo sustrato (peróxido de hidrógeno) no es un radical libre, aunque químicamente es potencial generador de reacciones prooxidantes <sup>(23)</sup>. El cambio de la actividad de esta enzima adquiere importancia porque la disminución puede significar mayores niveles de peróxido de hidrógeno producido por la SOD, que no serán descompuestos y puede llevar a modificar el estado redox del eritrocito, afectando principalmente al estado oxidativo de la hemoglobina como también a cambios en organización y la probable desnaturalización <sup>(16, 17)</sup>.

La relación SOD/CAT estimada con los resultados obtenidos corrobora lo expresado (Tabla N° 3), pues una diferencia significativa precisamente en el día 21 dice que en este tiempo de almacenamiento la capacidad de defensa oxidativa del eritrocito ha disminuido. La explicación es que, al disminuir la actividad de la CAT, la descomposición del peróxido de hidrógeno no se realiza de manera eficiente, colocando al glóbulo rojo en situación de potencial daño oxidativo frente a las especies reactivas del oxígeno. Debería esperarse óptimamente que las variaciones de las actividades de ambas enzimas no modifiquen la relación SOD/CAT, de ese modo el estado oxido-reductor no se afectaría notablemente <sup>(10)</sup>.

El resultado obtenido en la evaluación de la capacidad antioxidante total (AAEAC-ABTS) (Tabla N° 4) expresa un comportamiento comparable con el caso de la catalasa (Gráfico N° 4 y Gráfico N° 5), mostrando la disminución coincidente en el día 21 aunque el progreso de los días exhibió una recuperación al final del almacenamiento. Ambos indicadores han mostrado una correlación significativa (Tabla N° 6), pudiendo interpretarse entonces que la actividad de la catalasa tiene el potencial para determinar la capacidad antioxidante total del eritrocito.

En un estudio muy similar a este, pero en el 2017, Bardyn *et al.* <sup>(9)</sup> observaron cambios a nivel químico y estructural en los hematíes almacenados, donde la integridad del SDA se vio afectado por los desechos del metabolismo celular. En este estudio la capacidad antioxidante total evaluada electroquímicamente también mostró una disminución en el día 29 y significativa en el día 43 de los 71 días evaluados; si



bien es difícil la comparación, puede observarse en este estudio que se producen cambios en el SDA <sup>(9)</sup>. También en el 2017, Muñoz <sup>(8)</sup> encuentra cambios en el SDA de hematíes, destacando la disminución de la actividad de catalasa (CAT) y aumento del daño oxidativo a través del marcador de malondialdehído (MDA); lamentablemente, para fines de este estudio, la comparación de estos resultados con los valores obtenidos durante los ensayos para ambos marcadores (Tabla N° 2 y Tabla N° 5) se ve limitada debido a que el autor midió sus parámetros en hematíes frescos no conservados en las condiciones de un CHBS.

Con los resultados obtenidos también cabe plantear la siguiente pregunta: ¿Cuáles son los valores de referencia para dichos marcadores intracelulares? Algunos estudios intentan dar respuesta a ello, como lo reportado por Escrivá <sup>(39)</sup>, que haciendo uso de la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia nos presenta algunos valores de referencia en adultos donde se destaca el  $MDA = 0,80 \pm 0,28$  mM. A pesar de lo valioso de su estudio, nuevamente se presenta como limitante la incapacidad de comparar resultados ya que el método empleado no es el mismo, así como la muestra problema usada para ambos casos.

Finalmente, los resultados discutidos y con el soporte de la revisión bibliográfica, permiten respaldar la hipótesis inicialmente planteada sobre los cambios del estado óxido-reductor de los hematíes. Es importante resaltar que estos resultados iniciales pueden contribuir a una próxima y necesaria evaluación de la solución conservante dentro de las UGR que permitan una óptima conservación de los hematíes. La inexistencia de estudios comparables en el sistema de UGR a nivel nacional, alienta a futuras investigaciones relacionadas para poder contar mayores datos para la toma de decisiones.

**CAPÍTULO V:**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

## 5.1 CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos y al análisis estadístico de los mismos, las conclusiones del estudio son las siguientes:

- ✓ De las enzimas de defensa antioxidante superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), solo se encontró disminución significativa en la actividad enzimática de CAT; también se encontró diferencia significativa en los valores obtenidos para la relación SOD/CAT.
- ✓ El estado oxido reductivo de indicadores bioquímicos de defensa antioxidante en los hematíes evaluados, como capacidad antioxidante equivalente a ácido ascórbico (AAEAC- ABTS) tuvo cambios significativos, mientras que no se encontró cambios significativos en los valores obtenidos para estado óxido-reductor mediante concentración de malondialdehído (MDA).
- ✓ El almacenamiento durante 42 días en las condiciones establecidas en las UGR conduce al inicio de cambios en el estado oxido-reductor de los glóbulos rojos.

## 5.2 RECOMENDACIONES.

De acuerdo a la experiencia lograda, las recomendaciones son las siguientes.

- ✓ Recomendar la evaluación del sistema de defensa antioxidante como un parámetro de calidad en la conservación de los glóbulos rojos.
- ✓ Continuar con el estudio del estado óxido-reductor en los hematíes conservados en las condiciones estándar de un Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre.
- ✓ Ampliar la muestra problema para obtener datos y valores que otorguen una mayor robustez estadística.
- ✓ Evaluar otros marcadores de estrés oxidativo y parámetros relacionados que complementen los datos obtenidos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. PRONAHEBAS. Compendio para el uso clínico de sangre y componentes. Lima-Perú; 2004.
2. Peñuela O, Urbina A, Palomino L. Alteraciones bioquímicas de los eritrocitos almacenados en condiciones estándar de banco de sangre. Universidad Nacional de Colombia. Rev Fac Med. 2002; 50(3):147-153.
3. Sparrow R. Red blood cell storage and transfusion-related immunomodulation. Blood Transfus. 2010; 8(3):26-30.
4. Resolución Ministerial N° 628-2006/MINSA: Aprueba el Documento Técnico “Lineamientos de Política del PRONAHEBAS”. Lima-Perú; 2006.
5. Resolución Ministerial N° 210-2011/MINSA: Aprueba Directiva Sanitaria N° 040-MINSA/DGSP V.01 “Directiva Sanitaria para la Suscripción de Convenios Interinstitucionales entre Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre Tipo I y Tipo II”. Lima-Perú; 2011.
6. Resolución Ministerial N° 614-2004/MINSA: Aprueban el Sistema de Gestión de la Calidad del PRONAHEBAS. Lima-Perú; 2004.
7. Hess J. Measures of stored red blood cell quality. International Society of Blood Transfusion. Vox Sanguinis. 2014; 107(1):1-9.
8. Muñoz A. Cambios con el envejecimiento en parámetros de estrés oxidativo en células sanguíneas de hombres y mujeres. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 2017; 11(especial):113-119.
9. Bardyn M, Rappaz B, Jaferzadeh K, Crettaz D, Tissot JD, Moon I, *et al.* Red blood cells ageing markers: a multi-parametric analysis. Blood Transfus. 2017; 15(3):239-48.
10. Suárez S, Cabrera S, Ramírez E, Janampa D. Marcadores de estrés oxidativo en placentas de gestantes añosas. An Fac Med Lima. 2007; 68(4):328-332.

11. Ochante S. Correlación de la capacidad antioxidante total entre suero, saliva y orina empleando las técnicas de ABTS y FRAP en personas saludables [Tesis en internet]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015. Recuperado a partir de: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/4427>
12. Hospital Nacional “2 de Mayo”. *Servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre*. Consultado en 2017. Recuperado a partir de: <http://hdosdemayo.gob.pe>
13. Congreso de la República. Ley N° 26454: “Se declara de orden público e interés nacional la obtención, donación, conservación, procesamiento, transfusión y suministro de sangre humana. Creación del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS)”. *El Peruano*. Lima-Perú; 1995.
14. Resolución Ministerial N° 283-99-SA/DM: Establece las Normas de Procedimientos para el Control, Medidas de Seguridad, Sanciones en relación con la Obtención, Donación, Conservación, transfusión y Suministro de Sangre Humana. Lima-Perú; 1999.
15. INMP. *Manual de Hemoterapia*. 1° edición. Lima-Perú; 2008.
16. Forrellat M. Regulación del metabolismo del hierro: dos sistemas un mismo objetivo. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2016; 32(1):4-14.
17. Lisker R, Arámbula E, Ibarra B. Anemias hemolíticas por alteraciones de enzimas eritrocitarias. En: Ruiz G (coordinador). *Fundamentos de hematología*. 5ta edición. Editorial médica panamericana; 2014. p. 115-125.
18. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit*. 2002; 31(2):126-133.
19. Galina M, Ortiz M, Guerreiro M. Estrés oxidativo y antioxidantes. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 2018; 22(1):47-61.
20. McCord J, Fridovich I. Superoxide Dismutase. *The Journal of Biological Chemistry*. 1969; 244(22):6049-6065.

21. Castillo Y, Riverón G. Superóxido dismutasa citosólica y enfermedades genéticas. *Rev Cubana Genet Comunit*. 2014; 8(1):5-11.
22. Meunier B. Heme-peroxidases. En: J. A. McCleverty, & T. J. Meyer (Edits.). *Comprehensive Coordination Chemistry II*. 2003; 8:261-280. Elsevier Science.
23. Serrano C. Base de datos de proteínas: Catalasa. *Moleqla, Revista de ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*. 2018; (30):7-11.
24. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999; 26:1231-1237.
25. Castillo E. Vitamina C en la salud y en la enfermedad. *Rev Fac Med Hum*. 2019; 19(4):95-100.
26. Martorell M. Acción de alimentos funcionales ricos en ácidos grasos esenciales sobre el estrés oxidativo [Tesis doctoral en internet]. Mallorca: Universitât de les Ules Balears; 2003. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/11201/2582>
27. Mañón W, Garrido G, Núñez A. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2016; 4(2):62-83.
28. Gutiérrez R, Reyes C, Martínez J, López J, Lazalde B. Estrés oxidativo: promotor de enfermedades. *Revista electrónica semestral en Ciencias de la Salud*. 2018; 9(1):1-9.
29. Aguilar O, Castillo C, Díaz R, Nieto A, Méndez D. Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Mexican Journal of Biotechnology*. 2018, 3(1):60-72.
30. Gaschler M, Stockwell B. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482(3):419-425.

31. Melgarejo I, Balanza E, Torrez L, Quisberth S, Suzaño P. Concentración de malondialdehído en sujetos que residen a gran altitud: estudio exploratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2017; 34(4):677-681.
32. Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002; 127:183-198.
33. Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 1978; 52: 302-310. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6).
34. Manzur F, Álvarez N, Moneriz C, Corrales H, Cantillo K. Eriptosis: mecanismos moleculares y su implicación en la enfermedad aterotrombótica. *Rev Colomb Cardiol*. 2016; 23(3):218-226.
35. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Biochemistry*. 1974; 47:469-74.
36. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*. 1984; 105: 121-126.
37. León M, Cedeño R, Rivero R, Rivero J, García D, Bordón L. La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. 2018; 16(5):699-710.
38. Deyhim M, Navabi Z, Jalili M, Maghsoudloo M, Khoshnaghsh F. Alternation in Erythrocyte Enzyme Antioxidant Activity during Blood Storage. *IJBC*. 2014; 6(2):69-74.
39. Escrivá C, Viña J (dir), Gómez M (dir), Borrás C (dir). Estudio de los valores de referencia para los parámetros de estrés oxidativo: malondialdehído y glutatión, medidos por cromatografía líquida de alta eficacia, en humanos y animales de experimentación [Tesis doctoral en internet]. Valencia: Universitat de València; 2016. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/10550/50944>



ANEXOS.

## ANEXO N° 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

<b>FICHA DE REGISTRO PARA UNIDAD DE GLÓBULOS ROJOS</b>									
<b>SOBRE EL REGISTRO DE LA UGR:</b>					Código:		00000XXX		
Fecha de ingreso al CHBS:					____ / ____ / 20__				
Fecha de registro para fines del estudio:					____ / ____ / 20__				
<b>SOBRE LA/EL PACIENTE:</b>									
Sexo:		F (♀)		M (♂)		HC:			
Edad:				Peso:				Talla:	
Hb.:				Hto.:					
<b>INMUNOHEMATOLOGÍA:</b>									
ABO	A	B	AB	O	Rh	D	C	c	E
Otros hallazgos: _____									
_____									
_____									
_____									
<b>INMUNOSEROLOGÍA:</b>									
Marcador serológico								Resultado	
Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH-I y VIH-II)									
Virus de la Hepatitis B (VHB)				HBsAg					
				IgM anti-HBc					
Virus de la Hepatitis C (VHC)									
Virus Linfotrópico Humano de Células T (HTLV-I y HTLV-II)									
<i>Treponema pallidum</i> (Sífilis)									
<i>Trypanosoma cruzi</i> (Enfermedad de Chagas)									
Método de análisis:									
Reultados:				(R): Reactivo		(NR): No Reactivo		(I): Indeterminado	

PRIMERA MEDICIÓN (Día 0):		Fecha:	____ / ____ / 20__
Actividad enzimática de SOD			
Actividad enzimática de CAT			
AAEAC-ABTS			
MDA			
SEGUNDA MEDICIÓN (Día 21):		Fecha:	____ / ____ / 20__
Actividad enzimática de SOD			
Actividad enzimática de CAT			
AAEAC-ABTS			
MDA			
TERCERA MEDICIÓN (Día 42):		Fecha:	____ / ____ / 20__
Actividad enzimática de SOD			
Actividad enzimática de CAT			
AAEAC-ABTS			
MDA			

## ANEXO N° 2: INFORME DE JUICIO DE EXPERTO.



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina



### INFORME DE JUICIO DE EXPERTO

APRECIACIÓN DE JUICIO DE EXPERTO SOBRE EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA: “ACTIVIDAD OXIDO-REDUCTORA EN LOS HEMATÍES CONSERVADOS EN LAS CONDICIONES ESTÁNDAR DE UN CENTRO DE HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE. LIMA, 2018”.

Tesista: Julio César Caldas Guerra.

Estimado Lic. TM Hector Gregorio Hilario Coronel.

Me dirijo a Usted para saludarlo y solicitarle tenga a bien revisar y opinar sobre el instrumento adjunto, para lo cual le hago llegar un resumen del proyecto como insumo para emitir su juicio. Cabe destacar que el proyecto corresponde a la tesis que vengo planificando para la obtención del título profesional de Tecnólogo Médico en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. A continuación le presento los criterios con los cuales usted podrá emitir su apreciación del instrumento.

Por favor, colocar un aspa (X) en la columna correspondiente.

N°	CRITERIOS	SÍ	NO	OBSERVACIONES
1	La formulación del problema es adecuada.	X		
2	Los instrumentos facilitarán el logro de los objetivos de investigación.	X		
3	Los instrumentos están relacionados con la variable de estudio.	X		
4	El número de ítems del instrumento es adecuado.	X		
5	La redacción de los ítems del instrumento es correcta.	X		
6	El diseño de los instrumentos facilitará el análisis y procesamiento de datos	X		
7	Eliminaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		X	
8	Agregaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		X	
9	El diseño del instrumento será accesible a la población.	X		
10	La redacción es clara, sencilla y precisa.	X		

Nombre del juez-experto: Hector Gregorio Hilario Coronel.

Cargo: Tecnólogo Médico especialista en Hemoterapia y Banco de Sangre.

Identificación DNI: 06173601.

Fecha: Lima, 14 de septiembre del 2018.

  
.....  
Lic. Hilario Coronel Hector Gregorio  
Especialista en  
Hemoterapia y Banco de Sangre  
CTMP N° 10241 - RNE N° 00165



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina



**INFORME DE JUICIO DE EXPERTO**

APRECIACIÓN DE JUICIO DE EXPERTO SOBRE EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA: "ACTIVIDAD OXIDO-REDUCTORA EN LOS HEMATÍES CONSERVADOS EN LAS CONDICIONES ESTÁNDAR DE UN CENTRO DE HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE. LIMA, 2018".

**Tesista: Julio César Caldas Guerra.**

Estimado(a) Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas.

Me dirijo a Usted para saludarlo(a) y solicitarle tenga a bien revisar y opinar sobre el instrumento adjunto, para lo cual le hago llegar un resumen del proyecto como insumo para emitir su juicio. Cabe destacar que el proyecto corresponde a la tesis que vengo planificando para la obtención del título profesional de Tecnólogo Médico en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

A continuación le presento los criterios con los cuales usted podrá emitir su apreciación del instrumento.

Por favor, colocar un aspa (X) en la columna correspondiente.

Nº	CRITERIOS	SÍ	NO	OBSERVACIONES
1	La formulación del problema es adecuada.	x		
2	Los instrumentos facilitarán el logro de los objetivos de investigación.	x		
3	Los instrumentos están relacionados con la variable de estudio.	x		
4	El número de ítems del instrumento es adecuado.	x		
5	La redacción de los ítems del instrumento es correcta.	x		
6	El diseño de los instrumentos facilitará el análisis y procesamiento de datos	x		
7	Eliminaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		x	
8	Agregaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		x	
9	El diseño del instrumento será accesible a la población.	x		
10	La redacción es clara, sencilla y precisa.	x		

Nombre del juez-experto: Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas

Cargo: Profesor Principal. Facultad de Medicina UNMSM

Identificación (DNI, colegiatura): DNI 08754382

Fecha: Lima, 12 de febrero del 2020.

Firma

Dr. MIGUEL H. SANDOVAL VEGAS  
PROFESOR PRINCIPAL  
FACULTAD DE MEDICINA - UNMSM



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina



**INFORME DE JUICIO DE EXPERTO**

APRECIACIÓN DE JUICIO DE EXPERTO SOBRE EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA: "ACTIVIDAD OXIDO-REDUCTORA EN LOS HEMATÍES CONSERVADOS EN LAS CONDICIONES ESTÁNDAR DE UN CENTRO DE HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE. LIMA, 2018".

**Tesista: Julio César Caldas Guerra.**

Estimado(a) Dra. Sofia Esther Romero Mederos.

Me dirijo a Usted para saludarlo(a) y solicitarle tenga a bien revisar y opinar sobre el instrumento adjunto, para lo cual le hago llegar un resumen del proyecto como insumo para emitir su juicio. Cabe destacar que el proyecto corresponde a la tesis que vengo planificando para la obtención del título profesional de Tecnólogo Médico en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. A continuación le presento los criterios con los cuales usted podrá emitir su apreciación del instrumento.

Por favor, colocar un aspa (X) en la columna correspondiente.

Nº	CRITERIOS	SÍ	NO	OBSERVACIONES
1	La formulación del problema es adecuada.	x		
2	Los instrumentos facilitarán el logro de los objetivos de investigación.	x		
3	Los instrumentos están relacionados con la variable de estudio.	x		
4	El número de ítems del instrumento es adecuado.	x		
5	La redacción de los ítems del instrumento es correcta.	x		
6	El diseño de los instrumentos facilitará el análisis y procesamiento de datos	x		
7	Eliminaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		x	
8	Agregaría algún ítem en el instrumento. (Especifique)		x	
9	El diseño del instrumento será accesible a la población.	x		
10	La redacción es clara, sencilla y precisa.	x		

Nombre del juez-experto: Dr. Sofia Esther Romero Mederos


Cargo: Profesor Auxiliar. Facultad de Medicina UNMSM

Identificación (DNI, colegiatura): DNI 08236915

Fecha: Lima, 12 de febrero del 2020.


Firma

ANEXO N° 3: RESOLUCIÓN DECANAL N° 2382-D-FM-2018.



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE MEDICINA**

« Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional »  
Año del Centenario del Museo de Historia Natural y de la Revista Anales de la Facultad de Medicina »



24 SET. 2018

Meta: 3:35

Lima, 20 de setiembre de 2018

**RESOLUCIÓN DE DECANATO N° 2382-D-FM-2018**

Visto el Expediente N° 17038-FM-2018 de fecha 18 de setiembre de 2018 de la Unidad de Trámite Documentario y Archivo de la Facultad de Medicina, sobre aprobación de Proyectos de Tesis.

**CONSIDERANDO:**

Que, mediante Resolución de Decanato N° 1569-D-FM-2013 ratificada con Resolución Rectoral N° 01717-R-2016 de fecha 19 de abril de 2016, se aprueba el Reglamento para la Elaboración de Tesis para optar el Título Profesional en las Escuelas Académico Profesionales de la Facultad de Medicina, que en su Capítulo I. Introducción, Art. 2: establece que: "La tesis debe ser un trabajo inédito de aporte original, por la cual se espera que los estudiantes adquieran destrezas y conocimientos que los habiliten para utilizar la investigación como un instrumento de cambio, cualquiera sea el campo del desempeño" así mismo, en su Capítulo VI: Del Asesoramiento de la tesis: Art. 28 establece que: "La Dirección de la EAP con la opinión favorable del Comité de Investigación, solicitará a la Dirección Académica la Resolución Decanal respectiva para proceder a su ejecución";


Que, mediante Oficios N° 1923-1929-1930-1936/FM-EPTM/2018 la Directora de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, informa que los Proyectos de Tesis que figuran en la propuesta cuentan con opinión favorable de la Comisión de Investigación de la citada Escuela para su ejecución, y;

Estando a lo establecido por el Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y las atribuciones conferidas por la Ley Universitaria N° 30220;

**SE RESUELVE:**


- 1º Aprobar los Proyectos de Tesis de los egresados pertenecientes a la Escuela Profesional de Tecnología Médica, según anexo que en foja uno (01) forma parte de la presente resolución.
- 2º Encargar a la Escuela Profesional de Tecnología Médica el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, comuníquese, archívese.



**DR. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO**  
Vicedecano Académico (e)

Decanato  
EPTM  
Intermedios



**DR. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO**  
Decano (e)

Av. Grau 755 - Lima 1. Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú Telf. (511) 3283229 - (511) 3283238  
Web: [www.medicina.unmsm.edu.pe](http://www.medicina.unmsm.edu.pe)



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú DECANATO DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE MEDICINA**



« Año del Descubrimiento y la Reconstrucción Nacional »  
« Año del Centenario del Museo de Historia Natural y de la Revista Anales de la Facultad de Medicina »

**Cont. RESOLUCIÓN DE DECANATO N° 2382-D-FM-2018**




<b>Estudiante:</b> Richard Raitt Rodríguez Rojas Cód. 12010172 E.P. Tecnología Médica Área: Terapia Ocupacional <b>Asesora:</b> Lic. Mirtha Felicia Sánchez Casas Código Docente: 090441	<b>Título del Proyecto de Tesis:</b> "FACTORES DE RIESGO PSICOSOCIAL Y MOLESTIAS MUSCULOESQUELÉTICAS DE PROMOTORES DE SERVICIOS DE UNA EMPRESA BANCARIA LIMA - 2018"
<b>Estudiante:</b> Oscar Raúl Cule Castilla Cód. 09010125 E.P. Tecnología Médica Área: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica <b>Asesor:</b> Lic. TM. Carlos Raul Sevilla Andrade Código Docente: 098388	<b>Título del Proyecto de Tesis:</b> "COMPARACIÓN DE LA BACILOSCOPIA DEL ESPUTO CONCENTRADO CON HIPOCLORITO DE SODIO Y NALC-NAOH EN PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS DEL "C.M.I. LAURA RODRÍGUEZ", LIMA 2018"
<b>Estudiante:</b> Julio César Caldas Guerra Cód. 12010529 E.P. Tecnología Médica Área: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica <b>Asesora:</b> Dra. Silvia Suárez Cunza Código Docente: 067547	<b>Título del Proyecto de Tesis:</b> "ACTIVIDAD OXIDO -REDUCTORA EN LOS HEMATÍES CONSERVADOS EN LAS CONDICIONES ESTÁNDAR DE UN CENTRO DE HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE. LIMA, 2018"
<b>Estudiante:</b> Brandon Joao Mariño Ponce Anchiranco Cód. 13010573 E.P. Tecnología Médica Área: Terapia Física y Rehabilitación <b>Asesora:</b> Lic. Olga Jenny Cornejo Jurado Código Docente: 018333	<b>Título del Proyecto de Tesis:</b> "RELACIÓN ENTRE LA RECUPERACIÓN FUNCIONAL Y EL RANGO DE MOVIMIENTO DE RODILLA EN PACIENTES POST OPERADOS DE ARTROPLASTIA DE RODILLA, CENTRO MÉDICO NAVAL, LIMA-2018"



Av. Grau 755 - Lima I. Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú Tel: (511) 3283229 - (511) 3283238  
Web: [www.medicina.unasm.edu.pe](http://www.medicina.unasm.edu.pe)



ANEXO N° 4: OFICIO N° 4377-2018/HN.DAC-C-DG/OADI.

	<b>GOBIERNO REGIONAL DEL CALLAO</b> <b>HOSPITAL NACIONAL DANIEL A. CARRIÓN</b> "Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres" "AÑO DEL DIÁLOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"	
<b><u>OFICIO N° 4377 -2018/HN.DAC-C-DG/OADI</u></b>		
Callao,	15 NOV. 2018	
Señor: <b>Julio César Caldas Guerra</b> Alumno Escuela P. de Tecnología Médica Facultad de Medicina Humana Universidad Nacional Mayor de San Marcos <u>Presente.</u>		
		Asunto: Autorización de Proyecto de Investigación Referencia: 1).- N° Doc. HCA-019986 2).- Memorandum N° 105-2018-HNDAC-OADI/CIEI
De mi mayor consideración:		
Tengo a bien dirigirme a usted, saludándolo cordialmente y en atención a los documentos de la referencia, mediante el cual solicita la aprobación para realizar el Proyecto de Investigación titulado:		
<b>"ACTIVIDAD OXIDO – REDUCTORA EN LOS HEMATÍES CONSERVADOS EN LAS CONDICIONES ESTÁNDAR DE UN CENTRO DE HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE. LIMA 2018"</b>		
Proyecto evaluado y aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación CIEI, no habiéndose encontrado objeciones en dicha investigación de acuerdo a los estándares considerados en el Reglamento y Manual de procedimientos del mencionado comité, la versión aprobada se encuentra en los archivos de la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación OADI y que se ejecutará bajo la responsabilidad del tesista.		
En tal sentido, la Dirección General contando con la opinión técnica favorable del Comité Institucional de Ética en Investigación CIEI adscrito a la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación OADI, da la para la ejecución del proyecto de investigación en el área solicitada así como en la Oficina de Estadística y Sistemas Informativos si el tesista lo requiera. La aprobación tendrá vigencia de 12 (doce meses) contados desde la fecha de la presente autorización.		
Sin otro particular, hago llegar a usted las muestras de mi especial consideración y estima personal.		
Atentamente,		
MADA/JH/umdm CC. OADI Archivo	 <b>Dra. María Llena Aguilar Del Aguila</b> CMP 021517ENE 011809 DIRECTORA GENERAL	<b>GOBIERNO REGIONAL DEL CALLAO</b> Hospital Nacional Daniel Alcides Carrion
 <small>www.hndac.gob.pe   Av. Guardia Chalaca N° 2176 Belavista unidad.docencia_hndac@hotmail.com   Telefono 614-7474 Anexos 3303-3312 oadi_hndac@hotmail.com</small>		

## ANEXO N° 5: DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS OBTENIDAS.

CÓDIGO	GRUPO SANGUÍNEO	HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO	SEXO
0001	A+	13.6 g/dL 41%	Masculino.
0002	O+	14.4 g/dL 43%	Masculino.
0003	O+	14.1 g/dL 42%	Masculino.
0004	O+	15.2 g/dL 45%	Masculino.
0005	O+	14.3 g/dL 42%	Masculino.
0006	O+	13.3 g/dL 39%	Femenino.

## ANEXO N° 6: PROTOCOLO INICIAL PARA EL LISADO DE LOS HEMATÍES.

Mx. \ Dil.	1era dilución*	2da dilución**	3era dilución
Concentrado de hematíes lavados (mL).	1 mL	---	---
Hemolisado diluido 1/4 (mL).	---	1 mL	---
Hemolisado diluido 1/20 (mL).	---	---	1 mL
Agua bidestilada (mL).	3 mL	4 mL	4 mL
Resultado.	Hemolisado diluido 1/4 + membranas celulares	Hemolisado diluido 1/20 + remanentes de membranas celulares	Hemolisado diluido 1/100
Ensayos objetivo.	---	---	✓ SOD. ✓ AAEAC.

\* El sistema (concentrado de hematíes lavados más agua bidestilada), se dejó reposar por 20 min, luego se centrifugó a 4500 rpm por 15 min. El sobrenadante se usó para la segunda dilución. El precipitado, que constituye las membranas celulares, se resuspendió para la determinación de MDA.

\*\* El sistema (hemolisado diluido 1/4 más agua bidestilada), se dejó reposar por 20 min, luego se centrifugó a 4500 rpm por 15 min. El sobrenadante se usó para la tercera dilución. El escaso precipitado, que constituyó los remanentes de membrana celular, se resuspendió en conjunto con lo obtenido anteriormente para la determinación de MDA.

## ANEXO N° 7: CÁLCULO PARA LA DILUCIÓN Y VOLUMEN DE HEMOLISADO EMPLEADO PARA EL ENSAYO DE CATALASA.

Para el ensayo de Catalasa se utilizó un hemolisado diluido 1/12000. Esta dilución se obtuvo según lo indicado en la siguiente fórmula matemática.

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Dónde:  $C_i$  = Concentración inicial = Hemolisado diluido 1/100.

$V_i$  = Volumen inicial = 0,025 mL de hemolisado diluido 1/100.

$C_f$  = Concentración final = Hemolisado diluido 1/12000.

$V_f$  = Volumen final = 3 mL de hemolisado diluido 1/12000.

Por lo tanto se emplearon 0,025 mL (25 uL) de hemolisado diluido 1/100 más un volumen de 2,975 mL (2975 uL) de agua bidestilada para obtener 3 mL de hemolisado diluido 1/12000.

ANEXO N° 8: CURVA DE CALIBRACIÓN EMPLEADA PARA EL ENSAYO BIOQUÍMICO AAEAC-ABTS.

